



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Växtextrakts farmakologiska effekter i hästliniment

Matilda Axelsson



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013: 47

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2013



Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Växtextrakts farmakologiska effekter i hästliniment

Pharmacological effects of plant extracts in horse liniment

Matilda Axelsson

Handledare:

Carl Ekstrand, Carina Ingvast Larsson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator:

Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2013

Omslagsbild: Matilda Axelsson

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013: 47
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: häst, antiinflammatorisk effekt, smärtstillande effekt, växtextrakt, hästliniment, kanel, neem, ricin, rosmarin, trollhassel.

Key words: horse, anti-inflammatory effect, analgesic effect, plant extract, horse liniment, Cinnamon, Neem, Ricin, Rosemary, Witch hazel.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING	3
MATERIAL OCH METODER	3
LITTERATURÖVERSIKT	4
Effekter av växterna	4
Kanel (<i>Cinnamomum insulari-montanum hayata</i>)	4
Neem (<i>Azadirachta indica</i>)	4
Pelargon (<i>Geranium spp.</i>)	5
Ricin (<i>Ricinus communis</i>)	6
Rosemarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	7
Trollhassel (<i>Hamamelis virginiana</i>)	7
DISKUSSION	9
LITTERATURFÖRTECKNING	13

SAMMANFATTNING

Många utövare inom hästsporten använder liniment både före och efter hård ansträngning. Liniment används såväl förebyggande som i behandlande syfte av hästars muskler och leder vid smärta och svullnader. Detta arbete syftar till att studera eventuella antiinflammatoriska och analgetiska effekter av olika växtextrakt som kan ingå i hästliniment. Växterna som tas upp i litteraturstudien är Kanel (*Cinnamomum insulari- montanum hayata*), Neem (*Azadirachta indica*), Pelargon (*Pelargonium spp.*), Ricin (*Ricinus communis*), Rosmarin (*Rosmarinus officinalis*) och Trollhassel (*Hamamelis virginiana*). Litteraturstudien genererade endast en studie specifik på djurslaget häst. Efter administrering *per os* reducerade extrakt från Rosmarin inflammationsmarkörer i ledvätska efter inducerad ledinflammation. Dessutom finns flera studier, främst utförda på gnagare och människa, som påvisar att växtextrakten har antiinflammatoriska och/eller analgetiska effekter, efter systemisk administration. Flera av växtextraktens effekter har även jämförts med etablerade antiinflammatoriska substanser. Växtextraktens effekter på andra djurslag skulle eventuellt vara möjliga att extrapolera till häst, däremot är det svårt att bedöma huruvida linimenten efter topikal applicering har motsvarande effekt som efter systemisk administration av extrakten. Även om det inte heller kan uteslutas. Baserat på den här litteraturstudien finns anledning att anta att växtextrakten skulle kunna ha biologisk aktivitet på djurslaget häst. Av djurskydds-skäl får hästar som behandlas med antiinflammatoriska eller analgetiska läkemedel inte tävlas eller tränas under tävlingsliknande former i Sverige. Det finns således ett behov av mer forskning för att utvärdera ifall växtextrakten har motsvarande effekter efter topikal administration till häst.

SUMMARY

In equestrian sport many participants use liniment before and after hard effort. Liniment is used for both prophylaxis and treatment purposes of horse muscles and joints when they are swollen or in pain. The aim of this study is to overview the literature and to evaluate the potential of anti-inflammatory and analgesic effects of various plant extracts that horse liniment may contain. The plants included in this study are Cinnamon (*Cinnamomum insulari-montanum* Hayata), Neem (*Azadirachta indica*), Geranium (*Pelargonium spp*), Ricin/Castor oil plant (*Ricinus communis*), Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and Witch hazel (*Hamamelis virginiana*). The study generated only one study made on horses. When extracts of Rosemary were given *per os*, a reduced level of inflammatory markers in the synovial fluid was seen of the induced arthritis. In addition, several studies, mostly conducted in rodents and humans, demonstrating that plant extracts have anti-inflammatory and/or analgesic effects when given by systemic administration. Several effects of the plant extracts have also been compared with already established anti-inflammatory substances. The effects of plant extracts on other species would potentially be possible to extrapolate on the horse, however, it is difficult to assess whether ointments for topical application have a similar effect as by systemic administration of the extracts. Although it can not be excluded. Based on this literature, there is a reason to suspect that the plant extracts could have biological activity in the horse. Due to animal welfare reasons, in Sweden, horses treated with anti-inflammatory or analgesic drugs are not allowed to compete nor be trained in competitive like forms. There is thus a need for more research to determine if the plant extracts have similar effects after topical administration to the horse.

INLEDNING

Idag tränas och tävlas hästar i många olika discipliner och träningsformer på skiftande underlag och det kan vara påfrestande för muskler och leder. Liniment anses kunna behandla svullna ben och motverka smärta. Därmed avhjälps hästarnas trötta och ansträngda muskler och muskelfästen. Inför en kommande ansträngning anses liniment även kunna förbereda musklerna för bättre uthållighet, samt förebygga svullnader och inflammationer. På marknaden finns av dessa nämnda orsaker därför ett stort sortiment av liniment för utvärtes behandling. För ett snabbt resultat och till en låg kostnad, jämfört med ett veterinärbesök, kan utövaren själv massera in och behandla sin häst innan eller efter fysisk ansträngning, vid behov eller dagligen. Dessa liniment innehåller olika växtextrakt med verksamma substanser i olika mängder beroende på vilka egenskaper som efterfrågas. Om nu forskning påvisar samband mellan växtextrakt i liniment och antiinflammatorisk och smärtstillande effekt, bör de kunna jämföras med läkemedel till häst av motsvarande slag. För att leva upp till djurskyddslagarna har registrerade läkemedel av denna typ strikta dopingregler vid tävling och tävlingsinriktad träning. Detta för att endast friska hästar med opåverkad prestationsförmåga ska få tävlas.

Liniment för häst kan innehålla växter som Kanel (*Cinnamomum insulari- montanum hayata*), Neem (*Azadirachta indica*), Pelargon (*Pelargonium spp.*), Ricin (*Ricinus communis*), Rosmarin (*Rosmarinus officinalis*) och Trollhassel (*Hamamelis virginiana*). Syftet med litteraturstudien är att undersöka om extrakt från någon av dessa växter har antiinflammatorisk och/eller analgetisk effekt. Vilket således ger frågeställningen: *Ger någon av dessa ovan nämnda växter extrakt med antiinflammatorisk och/eller analgetisk effekt?*

MATERIAL OCH METODER

Litteratursökningen gjordes framförallt i sökmotorn ”Web of Knowledge”, i några fall även i sökmotorn ”PubMed”. I topic söktes det på *antiinflammation OR inflammation OR analgesic* tillsammans i topic med *växtens engelska namn OR växtens latinska namn OR växtextraktsnamnet*. Detta gav varierande antal träffar för de olika växterna. För de växter som gav många träffar lades det i topic även till *dermal OR topic* och fick på så vis ned träffarna till ett hanterbart antal. En artikel hittades vid sökning i topic på *växtens engelska namn OR växtens latinska namn* tillsammans med *antiinflammatory OR inflammation OR analgesic* i topic tillsammans med *horse OR equine**. Utifrån sökningsträffarna letades artiklar fram som kunde passa utifrån deras titlar och abstrakt. Genom att använda Googles sökfunktion på intressanta artiklars referenser hittades de ursprungsartiklar flertalet av dagens artiklar bygger på. Bibliotekarien på SLU:s veterinärbibliotek var mycket behjälplig vid sökning av böcker om ämnet. Urvalet är begränsat till litteratur på engelska eller svenska.

LITTERATURÖVERSIKT

Effekter av växterna

Kanel (*Cinnamomum insulari-montanum hayata*)

Extrakt av kanel innehåller stärkelse, terpenener (mycket polycykliska diterpener, sesquiterpener) och tanniner (flavonoiderna proantocyanid och cinnamtannin) (Brunton, 1995). Kanel är antibakteriell, antimykotisk, sedativ, påverkar hjärta, respiration och används inom folkmedicin vid urinvägsinfektioner och digestionssjukdomar, exempelvis vid magsår. Lin et al. (2008) visar att kanelnsorten *C. insulari-montanum Hayata* har större antiinflammatorisk effekt än den icke-steroida, antiinflammatoriska- och smärtstillande (NSAID)- substansen indometacin i både *in vivo* och *in vitro* försök. *In vitro* undersöktes kanels påverkan av enzymet *inducible nitric oxide synthase* (iNOS eller NOS2) och fria radikalen kväveoxid (NO) som vid inflammation signalerar om vasodilatation. Av terpenerna i kanel hade citral störst dosberoende effekt på iNOS. Minskningen av iNOS minskade makrofagers utsöndring av NO samt cytokinerna prostaglandin E2 (PGE₂) och tumörnekrosfaktor alfa (TNF- α). Vilket i sin tur ledde till att det inte stimulerades någon bildning av *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF κ B). Studien på gnagare kunde inte påvisa att citral påverkade enzymet cyklooxygenas 2 (COX-2) som kan inverka vid PGE₂ bildning. Vid topikal applicering *in vivo* hade både citral och fruktoljan från *C. insulari-montanum hayata* starkare och effektivare ödemreducerande aktivitet jämfört med antiinflammatoriska substansen indometacin. Efter att inflammationen inducerats i gnagares öra minskade indometacin bara örats vikt med 33 %, jämfört med citrals minskning med 83 % (vid dosen 300 μ g) och fruktoljan minskade ödemet med 77 % (vid dosen 500 μ g).

Neem (*Azadirachta indica*)

Inom folkmedicin används neems löv och fröolja som antiseptiskt- och antiparasitärt medel (Brunton, 1995). Neems antiinflammatoriska effekt kommer från extraktens innehåll av terpenener, där nimbidin och diterpener ingår, och högst halt av terpenener hittas i barken. Neems egenskaper har påvisats i flera *in vivo* studier, såväl analgetiska som antiinflammatoriska egenskaper har rapporterats (Patel et al., 2005; Zaman et al., 2009; Sonika et al., 2010; Gomase et al., 2011a; Gomase et al., 2011b; Patil et al., 2011; Periera et al., 2012). Extrakt från neem i olika formuleringar har jämförts mot placebo och kända antiinflammatoriska substanser i inflammations- och smärtmodeller på gnagare där placebo-grupperna användes som referensvärde. I antiinflammationsmodellen mättes tassarnas omkrets före och efter tassödeminducering samt efter injektioner av testsubstanser. Genom att analysera omkretsskillnaderna mellan grupperna framkom huruvida olika formuleringar av neemextrakt inhiberade ödemet och därigenom visade på antiinflammatorisk effekt. Etanolextrakt av löv från neem minskade ödem till hälften (Zaman et al., 2009; Sonika et al., 2010; Gomase et al., 2011a). Det effektivaste fruktextraktet inhiberade ödemet helt oavsett dos (Periera et al., 2012). Fruktextraktet reducerade också både prostaglandin PGE₂- och NO-inducerade ödem med 30 % eftersom neemoljans mest aktiva substans nimbidin, inhiberade makrofagers utsöndring av NO och PGE₂. Neemextraktets substanser inhiberade dessutom inflammationsmediatorer i den senare delen av inflammationen eftersom neemextraktet

inhiberade enzymet cyklooxygenas (COX) vilket hämmade uttrycket av bland annat PGE (Gomase et al., 2011a; Periera et al., 2012). Extrakt av neemlov hade större antiinflammatorisk effekt än indometacin i studien där dessa gavs *per os* och jämfördes med kontrollgrupp (Gomase et al., 2011a). Indometacin hade dock en något större procentminskning av ödemet (55 %) än neemextraktet (45 %). Jämfört med NSAID-substansen diklofenaknatrium hade behandlingen *per os* av frukt-etanolextraktet från neem den i studien största antiinflammatoriska aktiviten, den största ödemminskningen och gav en halvering av ödemet (Sonika et al., 2010). Behandling *per os* med neemextrakt minskade både den akuta inflammationen samt den kroniska inflammationen där granulomatösa vävnaden minskade. I studien användes tre djurgrupper som bestod av en kontrollgrupp (fick destillerat vatten), en positiv kontrollgrupp (fick indometacin, diklofenaknatrium, morfin eller paracetamol) och en testgrupp som oralt gavs etanolextrakt av *A. indica*. Zaman et al., (2009) föreslår att etanolextrakt av bladen från *A. indica* kan användas till behandling av inflammation, artrit, smärta och feber då neemextrakt uppvisar perifert analgetisk, antipyretisk, akut- och kronisk antiinflammatorisk effekt i djurmodeller.

Extrakt från *A. indica*, har en dosberoende analgetisk effekt *in vivo* (Patil et al., 2005; Gomase et al., 2011b; Patil et al., 2011). Studierna mätte råttors reaktionsförmåga när de på olika sätt utsattes för värme. Resultat av Patel et al.(2005) visar att subkutan injektion av en kombination av morfin och oljeextraktet av *A. indica* gav effekt, medan kombination av *A. indica* och opioidantagonisten naloxon eller naloxon för sig, inte gav någon analgetisk effekt alls. Effekten av barkextraktet från *A. indica* är jämförbar med effekten av diklofenaknatrium men har en svagare analgetisk effekt än opiaten buprenorfin och acetylsalicylsyra (Gomase et al., 2011b; Patil et al., 2011). Effekten tros bero på barkextraktets innehåll och kvantitet av terpenen nimbidin.

Pelargon (Geranium spp.)

Pelargon innehåller mycket verksamma terpen, t.ex. kamfer (Brunton, 1995). Lu et al., (2012) studerade vatten- och alkoholbaserade fraktioner av *Geranium nepalense* vid inflammation hos möss *in vivo* för att finna den mest bioaktiva fraktionen. I öronödemsmodellen jämfördes etylacetat- och butanolbaserade extrakts antiinflammatoriska effekter med kontrollgrupper där den smärtstillande substansen acetylsalicylsyra användes som positiv kontroll. Växtfraktionerna gavs via magperfusion efter att musöronen inducerats med inflammation. Musöronens tjocklek och vikt mättes för utvärdering av substansernas effekter på inflammationen. Inflammationen inhiberades av både etylacetat- och butanolbaserade fraktionerna av *G. nepalense* där etylacetatextraktet hade störst ödeminhiberande förmåga och liknade den av acetylsalicylsyra. Etylacetatfraktionen innehöll 6 polyfenoler bestående av tre flavonoider (kaempferol, kaempferol-7-O- β -D-glukopyranosid, quercetin-7-O- α -rhamnopyranosid), två tanniner (pyrogallol, gallussyra) och en lignin (epipinoresinol). Författarna till studien diskuterar om de fenoler med mest antiinflammatorisk aktivitet i extrakt av *G. nepalense* kan vara tanninerna pyrogallol och gallussyra.

Ricin (Ricinus communis)

Ricin har använts sedan 2000 år före Kristus i Indien och Grekland som brännolja i lampor och inom folkmedicinen bl.a. för dess laxerande förmåga (Brunton, 1995). Idag smörjer ricinoljan motorer, ingår i svampmedel och kosmetika. Ricinolja innehåller i huvudsak lipider, främst den verksamma triglyceriden ricinolsyra (RA). De mycket giftiga ricinfröna innehåller det toxiska lektinet ricin. Ricin D orsakar toxicitet då det både binder till celltor och påverkar proteinsyntesen i eukaryota celler.

Ricinolsyra är den mest aktiva substansen i ricinolja och har liknande pro- och antiinflammatoriska egenskaper som capsaicin genom att minska frisättsättningen av neuropeptider (Viera et al., 2000; Viera et al., 2001). I den akuta proinflammatoriska *in vitro* studien som utvärderade ricinolsyrans effekt jämfört med capsaicin, använde Viera et al., (2001) kutana nervändar som modell för hudens känslighet. Vid dissociering av kultiverade neuron från råttors dorsalrotsganglier (DRG) kunde RA inte inducera något flöde av nervimpulser men kunde inhibera inåtgående afferenta flöden som inducerats av capsaicin och/eller lågt pH. Som följd minskade RA nivån av den kalcitonin genrelaterade peptiden (CGRP) i neuronerna, som inducerats av capsaicin. Metanolextrakt av ricinrot pekar på samma antiinflammatoriska potens som diklofenaknatrium då de *per os* nästan halverar ödemet i både akuta och kroniska inflammationsmodeller på gnagare (Ilavarasan et al., 2005). Vidare användes topikal administrering av RA och capsaicin vid olika inflammationsmodeller på gnagare *in vivo* (Viera et al., 2000; Viera et al., 2001). De akuta proinflammatoriska effekterna av RA och capsaicin orsakade ödembildning och kunde öka ett redan inducerat ödem eftersom de gav upphov till akut neuropeptidfrisättning (substans P och neurokinin A) från sensoriska nervändar, samt inducerade vasodilatation och protein extravasering. För RA kunde dessa effekter förhindras av en selektiv takykinin NK receptor antagonist vilket indikerar att både effekten av att bilda ödem, samt förstärkningen av redan inducerat ödem, berodde på ricins förmåga att påverka neuropeptidinnehållet av takykininer. Ricinolsyrans och capsaicins frisättning av takykininer skedde från samma område i neuronet.

Den antiinflammatoriska och inhiberande effekten kom först vid upprepade topikal behandling av RA och capsaicin i de olika modellerna av kronisk inflammation. En treveckors behandling med RA minskade ödemet för var vecka och upp till 85 % medan capsaicins halverande effekt avtog efter två veckors behandling. Inhibering av den kroniska inflammationen berodde på att RA och capsaicin blockerade de efferenta sensoriska nerverna. RA minskade även peptidmängden av takykininer (Substans P med ca 60-80% och neurokinin A med ca 50 %) i inflammationsområdet. I början av behandlingarna orsakade capsaicin irritation och hyperemi i huden som försvann vid dag tre i de olika studierna. Den antiinflammatoriska effekten av RA var jämförbar med en tiofald lägre dos av capsaicin.

Rosemarin (*Rosmarinus officinalis*)

Rosemarin har traditionellt använts vid förkylning, gastrointestinala problem, dålig munhygien, och för att förhöja njurens och matsmältningskanalens eliminerande funktioner (Brunton, 1995). I örten finns verksamma flavonoider, rosmarinsyra och tricykliska diterpener. Dess essentiella olja innehåller bland annat kamfer, cineol och terpen. Vid topikal administrering på inducerat öronödem på mus hade extrakt av rosmarinblad en dosberoende antiinflammatorisk effekt *in vivo* samt en jämförbar effekt med indometacin (Altiner et al., 2007). Den studie litteratursökningen gav på häst undersökte antiinflammatoriska effekten av rosmarins polyfenoler vid inducerad ledinflammation av lipopolysackarider (LPS) (Pearson et al., 2011). Med hjälp av inflammationsmarkörer i ledvätska undersöktes effekten genom att mäta ledvätskans halter av PGE₂, NO och glykosaminoglykaner (GAG) som frisätts vid inflammation. Åtta hästar gavs oralt rosmarinextraktet *High-Rosmarinic Acid Mint* (HRAM) under 24 dagar. Vid dag 21 gavs en intra-artikulär injektion av LPS i en interkarpal led så att inflammation framkallades. Analys av synovialvätskans innehåll (PGE₂, GAG, NO, protein och totala mängden cellföda celler) före och efter injektion visade att PGE₂ och GAG koncentrationerna inte ökade lika mycket hos hästarna som fått HRAM jämfört med kontrollgruppen. HRAM-hästarna hade även en ökning av proteiner i form av immunkomplex från komplementsfaktorer.

Martínez et al., (2012) studerade tre etylacetat fraktioner av etanolextrakt från *Rosmarinus officinalis* där de verksamma triterpenernas (ursolsyra, oleanolic syra och micromeric acid) analgetiska effekt utvärderades. Möss injicerades intraperitonealt med en irriterande substans och mössens smärtrörelser studerades och mättes före och efter att de olika intraperitoneala injektionerna av rosmarinfraktionerna getts. Skillnaden i rörelser indikerade syrnas smärtlindrande effekt vid magsmärtor. Samtliga tre triterpener visade på en dosberoende effekt där oleanolic syran visade på något svagare potens än de andra två. Effekterna av triterpenerna från rosmarin var desamma som den av NSAID substansen ketorolak som användes som positiv kontroll.

Trollhassel (*Hamamelis virginiana*)

Det dekorativa lilla trädet *Hamamelis virginiana* (eng. *Witch hazel*) används som medicinalväxt främst som adstringerande medel och vasokonstriktor (Brunton, 1995). De verksamma ämnena i löv och bark är essentiell olja, flavonolglukosider och de viktiga tanninerna (polyfenol proantocynainidin, gallussyra, hamamelitannin) som ger vasokonstriktion. Barken har en högre hamamelitannin halt (65 %) än löven (1,5 %). Extrakt från trollhassel har antiinflammatoriska egenskaper (Korting et al., 1993; Deters et al., 1994; Wolff & Kieser, 2007). Hamamelisextrakt i olika formuleringar har jämförts mot kontrollgrupper, placebo och kända antiinflammatoriska substanser *in vivo* på människa. Trollhassels sårläkningsförmåga stöds av Wolff & Kieser, (2007) som påvisade att hamamelissalva och substansen dexpantenol har liknande antiinflammatorisk effekt. Studien inkluderade 309 barn (från 0- 11 år) med olika hudåkommor där hamamelissalvan hade mer effekt än dexpantenol på blöjexem med sår. Korting et al., (1993) påvisade att samtliga destillat av *H. virginiana* minskar UV-inducerat erytem på människa. Krämer av 4

olika destillat gjordes och jämfördes med 1 % hydrokortisonkräm och kontrollgrupp där erytemet mättes i färgintensitet. Låg dos av Hamamelis, avläkte erytemet hos de 48 personerna, liksom kortisonkrämen gjorde. Av destillaten hade hamameliskrämen med fostatidylkolin mest antiinflammatoriskeffekt, dock något lägre potens än kortisonkrämen, och visade sig vara icke-dosberoende. Även proantocyanider extraherade från hamamelisbark minskade erytembildning på människohud med dermatit där irritation och färgintensitet mättes och poängsattes (Deters et al., 1994).

DISKUSSION

De flesta studier inkluderade i den här litteraturstudien om växternas antiinflammatoriska- och analgetiska effekter är gjorda på ricin och neem samt på djurslagen mus och råtta. Administreringen är företrädesvis systemisk men några studier är utvärderade efter topikal administrering. De mest använda växtdelarna är blad och bark och de mest bioaktiva substanserna verkar vara flavonoiderna. Samtliga växtextrakt inkluderade i litteraturstudien har antiinflammatorisk effekt. Vissa har även analgetisk effekt, primärt eller sekundärt. Som sekundär analgetiskeffekt räknas de växtextrakt som exempelvis kan minska ödem och därmed smärtan ödemet ger, eftersom ödem utgör tryck och vävnadspåfrestning så att smärta uppkommer.

Vid inflammation frisätts cytokiner och andra inflammationsmediatorer, vilket ger systemiska effekter där bl.a. makrofager fungerar som sammanlänkande celler av det ospecifika- och det adaptiva immunförsvaret för start av en inflammationsprocess (Tizard, I.R., 2008). Bland de inflammationsmediatorer som frisätts när en inflammation initieras finns PGE, TNF, NO och interleukiner (IL). I inflammationskaskaden har mediatorerna många funktioner. Bland några kan nämnas att prostaglandiner bidrar till kärl dilation i den perifera kärlbädden, TNF- α bidrar till uppreglering av blodkärlsväggens adhesionsmolekyler, en funktion IL-8 har är att guida immunceller till patogenen vid en infektion och IL-1 samt IL-6 som tillsammans med TNF- α bland annat orsakar feber. De sistnämnda medverkar också till att levern börjar producera akutfasproteiner som tillsammans med antikroppar och komplementsystemet orsakar komplementaktivering. Komplementaktiveringen bidrar till att lysa patogener och hjälper till med opsonisering så att fagocyterande immunceller lättare hittar till antigenet. Makrofager och cytokinproduktionen inhiberas av neemextraktet och rosmarinextraktets antiinflammatoriska effekt sänkte PGE₂-nivåerna och ökade mängden immunkomplex från komplementsfaktorer (Pearson et al., 2011; Periera et al., 2012). Vid immunförsvarets tidiga skede deltar även NF- κ B, en viktig transkriptionsreglerare av flera gener i celler som deltar i immunförsvaret. När NF- κ B aktiveras av TNF- α , IL-1, reaktiva syreföreningar (*reactive oxygen species*, ROS) eller av patogener produceras proinflammatoriska cytokiner, bland annat IL-1, IL-6 TNF- α , samt iNOS och COX-2 som bildar NO och PGE₂. Även fagocyter kan producera iNOS som bland annat aktiveras av IFN- γ och TNF- α . Enzymet iNOS, som även kallas NOS2, har en specifik immunresponspåverkan då det producerar, liksom fagocyter, den viktiga signalsubstansen och vasodilateraren NO. Kanelextraktets antiinflammatoriska effekt sänkte iNOS vilket inhiberade makrofagerna, deras cytokinproduktion liksom aktivering av NF- κ B (Lin et al., 2008). De typiska inflammationstecknen (smärta, rodnad, värme och svullnad) fås bl.a. genom att COX-2 bildar PGE när COX-2 aktiveras av immuncellernas substanser vid inflammation. Antiinflammatoriska läkemedel, t.ex. NSAID kan verka genom att hämma dessa COX-enzymen för att mildra inflammationen. Likaså hämmade neemextraktet PGE-produktionen genom att inhibera COX (Gomase et al., 2011a; Periera et al., 2012). Ricinextraktets proinflammatoriska effekt i akuta inflammationen gav ödem på grund av neuropeptidfrisättning från afferenta neuron, samt vasodilation och proteinextravasering (Viera et al., 2000; Viera et al., 2001). Ricinolsyrans antiinflammatoriska effekt reducerade

istället den kroniska inflammationen genom att blockera de efferenta neuronerna och minska deras neuropeptidnivå.

I jämförelse av växtextraktens effekter med andra läkemedel är det extrakt av kanel som visar på störst skillnad i antiinflammatorisk effekt både *in vitro* och *in vivo*, där fruktextraktet och citral visade på 77 % respektive 83 % ödemminskning jämfört med indometacins 33 % minskning (Lin et al., 2008). Effekten berodde på terpenen citral som har dosberoende inhibering av iNOS och således NO, vilket sänkte nivåerna av TNF- α i *in vitro* studien. Citral sänkte även celleytosolens NF- κ B-nivåer, men hade ingen effekt på COX-2. Detta är mycket intressanta data men med ett bristfälligt underlag, vilket borde initiera till större insatser i framtiden för att vidare undersöka och utvärdera kanelextraktets antiinflammatoriska effekt.

Med tanke på det stora antalet studier som belyser neems både antiinflammatoriska, analgetiska och antipyretiska effekter borde extra uppmärksamhet riktas mot denna växt och ge anledning till mer forskning inom området på häst vid topikal behandling. Särskilt då neemextrakt innehåller många olika verksamma fytokeikalier såsom flavonoider, tanniner, alkaloider och tetranortriterpener (Zaman et al., 2009). Neemextrakt verkar både tidigt och kraftfullt vid inflammation då den icke-dosberoende antiinflammatoriska effekten kommer av att terpenen nimbidin inhiberar makrofagers förmåga att utsöndra NO och PGE₂, och därför inhiberar ödem helt, oavsett dos (Periera et al., 2012). Neemextraktets effekt är välstuderat och har jämförts med flera olika läkemedelssubstanser. Bland annat liknar antiinflammatoriska effekten den av indometacin medan den är större än den av diklofenaknatrium (Sonika et al., 2010; Gomase et al., 2011a). Den analgetiska och dosberoende effekten stöds av flera studier där neemextrakt och diklofenaknatrium har jämförbar effekt samtidigt som neemextrakt står sig något svagare i effekt jämfört med buprenorfin och acetylsalicylsyra (Patil et al., 2011; Patel et al., 2005; Gomase et al., 2011b).

Den studie som fanns på *Geranium nepalense* visade att växtextraktet innehåller många polyfenoler där pyrogallol och gallussyra verkar vara de tanniner med störst bioaktivitet (Lu et al., 2012). Växtextraktet av *G. nepalense* inhiberade ödemet på gnagare och har en liknande antiinflammatorisk effekt som acetylsalicylsyra, vilket talar för att fler studier behövs för att undersöka dess effekt ytterligare.

In vitro och *in vivo* studier av ricin på gnagare pekar på att det är främst fytokeikalernas flavonoider som ger antiinflammatorisk effekt i såväl de akuta som kroniska inflammationsfaserna (Viera et al., 2000; Viera et al., 2001; Ilavarasan et al., 2005). Mellan Ricin och capsaicin finns många beaktansvärda likheter och skillnader. Ricinolsyra, den mest aktiva substansen i ricinolja, har liknande proinflammatoriska och antiinflammatoriska egenskaper som capsaicin vid akut och kronisk inflammation (Viera et al., 2000; Viera et al., 2001). Den proinflammatoriska effekten av RA kommer av ökad neuropeptidfrisättning från afferenta nervers neuron. Den antiinflammatoriska effekten på den kroniska inflammationen sker vid upprepad behandling genom att blockera de efferenta neuronens funktion och minska neuropeptidmängden, liknande effekten av capsaicin (Viera et

al., 2001). Olikt capsaicin, har inte RA någon kutan analgetisk effekt *in vitro* eftersom RA inte inducerar något ingående flöde i kutana afferenta DRG neuron. RA kunde däremot hämma ett flöde redan inducerat av capsaicin. Inte heller frisätter RA neuropeptiden CGRP som verkar vid transmission av smärta vilket capsaicin gör. RA har dock förmågan att hämma CGRP. Intressant är också att ricinextraktet har hälften så stor potens som capsaicin att nå samma proinflammatoriska effekt samt att en upprepad behandling av RA *in vitro* ger en minskad respons av externa stimuli i hudens neuron medan capsaicin helt tar bort känsligheten. Eftersom RA inte inducerade något inåtgående flöde i afferenta sensoriska neuron eller frisättning av neuropeptiden CGRP i isolerade neuron menar Viera et al. (2001) att om fler studier görs på ämnet skulle RA kunna bli ett alternativ till capsaicin inom humanmedicin vid behandling av neurogena inflammationer. Vid en längre lokalbehandling *in vivo* av inflammation på gnagare visade topikal administrering av RA både en större och längre ihållande antiinflammatorisk effekt än capsaicin (Viera et al., 2000). RA gav heller inte några hyperalgetiska effekter vid hetta eller smärtstimuli under behandlingens första dagar så som capsaicin gjorde. Beaktansvärt är även att den antiinflammatoriska effekten av ricinextraktet var jämförbar med en tiofalt lägre dos av capsaicin. Skillnaderna och likheterna mellan egenskaperna för ricin och capsaicin är högst intressanta och argumenterar för att betydligt fler studier behövs med topikal behandling på häst för vidare utredning av ricinextraktets effekter.

Fraktionerna med terpenier från rosmarin hade mer analgetisk effekt än dess extrakt vid intraperitoneala dosen 100mg/kg och dess effekt var densamma som för NSAID substansen ketorolak (Martínez et al., 2012). Rosmarins antiinflammatoriska effekt stöds av två studier med topikal och oral administrering (Altiner et al., 2007; Pearson et al., 2011). Trots att koncentrationökning inducerades genom LPS skedde ingen signifikant ökning av varken PGE₂ eller GAG nivåerna i ledvätskan hos de hästar som oralt getts rosmarinextrakt. Immunkomplexen och kärnförande celler ökade i ledvätskan, medan blodets totalantal vita blodkroppar sänktes, särskilt neutrofiler och lymfocyter. Dessa samband, som gav en signifikant skillnad mot kontrollgruppen samt en signifikant ökning i kontrollgruppen, tyder på antiinflammatorisk verkan. Dock behövs fler studier på sambanden innan slutsatser kan dras att rosmarin kan orsaka antiinflammatorisk effekt genom komplementinhibering.

Enligt Wolff & Kieser (2007) har trollhassel sårläkningseffekt och kan minska erytem. Korting et al. (1993) visar att dess extrakt har mer effekt än dexpantenol på blöjeksem. Trollhassel har nästan samma antiinflammatoriska effekt som 1 % hydrokortisonsalva, och 100 % mer effekt än kamomillkräm. På trollhassel liksom kanel och pelargon fanns inte lika många studier gjorda som passade in i litteraturstudiens frågeställning. Dock visar de alla på efterfrågad effekt och gör dem högst intressanta för fler studier på häst och för topikal administrering.

Anledningen till att så få artiklar fanns kan vara att artiklar inte hittades i de databaser som använts, att inte rätt sökord använts eller att det mest troligen inte finns så många relevanta studier gjorda på dessa växter och med topikal administrering på djurslaget häst. Den enda studie litteratursökningen gav på häst var av örten rosmarin och dess påverkan på

ledinflammation men med administrering *per os*. De studier som tas upp i litteraturstudien är prospektiva, är väl genomförda och har trovärdiga resultat. De har kontrollgrupper där behandlingen kontrollerats mot antingen en positiv eller negativ kontroll eller en kombination av dem båda. Många studier har även jämförts med väletablerade läkemedelssubstanser på marknaden. När det gäller de toxiska studierna gav ingen studie av växtextrakten någon mortalitet eller beteendestörning hos de studerade djuren vid de undersökta doserna. Bieffekter observerades bara vid en tassödemstudie på gnagare av neemextrakt där det skedde en ökning i blodet av cirkulerade lymfocyter och ureahalt (Periera et al., 2012). Periera et al. (2012) menar att det kan ha ett samband med att studien använde sig av en ödeminducerande irritant som i sig orsakar proteinläckage från kärlen. Anmärkningsvärt är att neemextrakt, jämfört med kontrollgrupp, sänkte proteinläckaget med 81 % och hämmade inflammationsmediatorer som PGE₂ och NO.

Flera studier påvisar växtextraktens antiinflammatoriska och/eller analgetiska effekter. De är främst utförda på gnagare och människa och efter systemisk administration. Samtidigt har de jämförts med etablerade antiinflammatoriska substanser där många växtextrakt har likvärdig eller större effekt än kontrollsubstanserna. Växtextraktens effekter på andra djurslag skulle därför eventuellt vara möjliga att extrapolera till häst. Däremot är det svårt att bedöma om linimenten har motsvarande effekt vid topikal applicering som effekten efter systemisk administration av extrakten, men det kan heller inte uteslutas. Förutsättningarna för effekt efter topikal administration är att de bioaktiva substanserna finns i tillräckligt hög koncentration i linimentet och tas upp genom huden till exempelvis blod, muskler och leder. Den här litteraturstudien indikerar att växtextrakten skulle kunna ha biologisk aktivitet på djurslaget häst. Hästar som behandlats med antiinflammatoriska eller analgetiska läkemedel får inte tävlas eller tränas under tävlingsliknande former i Sverige av djurskyddsskäl. I jordbruksverkets föreskrifter om träning och tävling med djur (SJVFS 2011:24), saknummer L17 finns regler kring doping och hos varje hästsportsförbund finns särskilda regler som gäller för hästsporter som till exempel trav, ridsport och galopp. Om terapeutiska koncentrationer av växtsubstanserna finns i liniment till häst samtidigt som linimenten visas vara effektiva mot smärta och/eller inflammation kan det leda till behov av åtgärder från hästsporten för att se till att djurvälståndet säkerställs. Att liniment till häst kan innehålla växtextrakt med potentiell antiinflammatorisk eller analgetisk effekt ger sålunda ett behov av mer forskning för att utvärdera om växtextrakten har motsvarande effekter efter topikal administration på häst.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Altinier, G., Sosa, s., Aquino, R.P., Mencherini, T., Della Loggia, R., Tubaro, A. (2007). Characterization of topical anti-inflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L., *Journal of agricultural and food chemistry*, 55, 1718-1723.
- Bruneton, J.(1995). *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. 1. uppl. Lavoisier. Lavoisier publishing.
- Deters, A., Dauer, A., Schnetz, E., Fartasch, M., Hensel, A. (2001). High molecular compounds (polysaccharides and proanthocyanidins) from Hamamelis virginiana bark: influence on human skin keratinocyte proliferation and differentiation and influence on irritated skin. *Phytochemistry*, 58, 949-958.
- Gomase, P.V., Priti S. Shire, Sayyed Nazim, Amol. Choudhari, Siraj Shaikh, Ashish Khairnar. (2011)b .Phytochemical evaluation and analgesic activity of fresch juice of young steem (tender) bark of Azadirachta indica A. Juss. *Der Pharmacia Lettre*, 3, 407-415.
- Gomase, P.V., Shire, P.S., Nazim, S., Choudhari, A.B. (2011) A. Development and evaluation of polyherbal formulation for anti-inflammatory activity. *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, 1, 85-90.
- Ilavarasan, R., Mallika, M., Venkataraman, S. Anti-inflammatory and free radical scavenging activity of Ricinus communis root extract. (2006). *Journal of ethnopharmacology*, 103, 478-480.
- Jordbruksverket. Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om träning och tävling med djur, SJVFS, 2011:24, L17. [online] (2011-06-08) Tillgänglig: <http://www.jordbruksverket.se/download/18.4b2051c513030542a9280003681/2011-024.pdf>. [2013-03-03]
- Korting, H.C., Schäfer-Korting, M., Hart, H., Laux, P., Schmid, M. (1993). Anti- inflammatory activity of hamamelis distillate applied topically to the skin. *European journal of clinical pharmacology*, 44, 315-318.
- Lin, C-T., Chen, C-J., Lin, T-Y., Chen Tung J., Sheng-Yag Wang S-Y. (2008) Anti-inflammation activity of fruit essential oil from Cinnamomum insularimontanum Hayata. *Bioresource Technology*, 99, 8783-8787.
- Lu, C., Li, Y., Li, L., Liang, L., Shen, Y. (2012). Anti-inflammatory activities of fracktions from *Geranium nepalense* and related polyphenols. *Drug discovereries & Therapeutics*, 6, 194-1997.
- Martínez, A. L., Gonzáles-Trujano, M.E., Chávez, M., Pellicer, F. (2012) Antinociceptive effectiveness of triterpenes from rosemary in visceral nociception. *Journal of ethnopharmacology*, 142, 28-34.
- Patel,J. P., Hemavathi, K.G., Bhatt, J.D. (2005). Study of the antinociceptive effect of neem leaf extract and its interaction with morphine in mice. *Indian J Pharmacology*, 37, 37-45.
- Patil, P., Patil, S., Verma, S., Adake, P. (2011). Analgesic activity of alcoholic extract of Azadirachta indica (neem) root bark. *Pharmacoloyonline*, 3, 1434-1439.
- Pearson, W., Fletcher, R.S., Kott, L.S., (2011). Oral rosmarinic acid-anchanced *Mentha spicata* modulates synovial fluid biomarkers of inflammation in horses challenged with intra-articular LPS. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 35, 495-502.

- Periera, L.d.P., da Silva, K. E.S., da Silva, R.O., Pereira, A. M. G., (2012). Anti-inflammatory polysaccharides of *Azadirachta indica* seed tegument. *Revista Brasileira de Farmacognsia. Brazilian Journal of pharmacognosy*, 22, 617-622.
- Sonika, G., Manubala, R., Deepak, J. (2010). Comparative studies on anti-inflammatory activity of *Corandrum sativum*, *Datura stramonium*, *Azadirachta indica*. *Asian J. Exp. Biol. Sci*, 1, 151-154.
- Tizard, I.R. (2008). *Veterinary Immunology: An Introduction*. 8. uppl. Saint Louis. Saunders W B Co.
- Vieira, C., Evangelista, S., Cirillo, R., Lippi, A., Maggi, C.A., Manzini, S. Effect of ricinoleic acid in acute and subchronic experimental models of inflammation. (2000). *Mediators of inflammation*, 9, 223-228.
- Vieira, C., Fetzter, S., Sauer, S.K., Evangelista, S., Averbek, B., Kress, M., Reeh, P.W., Cirillo, R., Lippi, A., Maggi, C.A., Manzini, S. Pro- and anti-inflammatory actions of ricinoleic acid: similarities and differences with capsaicin. (2001). *Naunyn-schimiedeberg's archives of pharmacology*, 364, 87-95.
- Wolff, H.H., Kieser, M. (2007) Hamamelis in children with skin disorders and skin injuries: results of an observational study. *European journal of Pediatrics*, 166, 943-948.
- Zaman, M.M-U., Ahmed, N.U., Akter, R., Ahmed, K., Aziz, M.S.I., Ahmed, M.S. (2009). Studies on anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities of ethanol extract of *Azadirachta indica* leaves. *Bangladesh J. Sci. Ind. Res*, 44, 199-206.